



PATENT
Attorney Docket No. 223380
Client Reference No. 201121

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:

Nishiya et al.

Application No. 10/607,916

Filed: June 27, 2003

Art Unit: Unassigned

Examiner: Unassigned

For: MAGNETIC CARRIER FOR BIOLOGICAL SUBSTANCE,
PRODUCTION METHOD THEREOF AND ISOLATION
METHOD OF BIOLOGICAL SUBSTANCE USING SAME

CLAIM OF PRIORITY

Mail Stop
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

In accordance with the provisions of 35 USC 119, Applicants claim the priority of the following application or the applications (if more than one application is set out below):

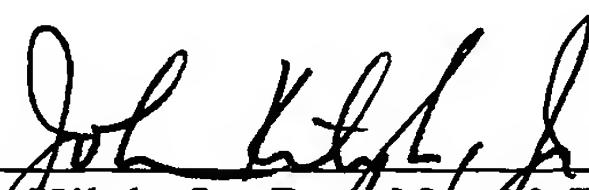
Application No. 2002-188140, filed in Japan on June 27, 2002;

Application No. 2002-230533, filed in Japan on August 7, 2002; and

Application No. 2002-267170, filed in Japan on September 12, 2002.

Certified copies of the above-listed priority documents are enclosed.

Respectfully submitted,



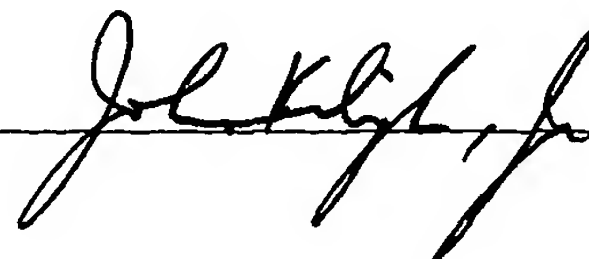
John Kilyk, Jr., Reg. No. 30,763
LEYDIG, VOIT & MAYER, LTD.
Two Prudential Plaza, Suite 4900
180 North Stetson
Chicago, Illinois 60601-6780
Telephone: (312) 616-5600
Facsimile: (312) 616-5700

Date: August 18, 2003

CERTIFICATE OF MAILING

I hereby certify that this CLAIM OF PRIORITY (along with any documents referred to as being attached or enclosed) is being deposited with the United States Postal Service on the date shown below with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to: Mail Stop, Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

Date: August 18, 2003



日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2002年 6月27日

出 願 番 号

Application Number:

特願2002-188140

[ST.10/C]:

[JP2002-188140]

出 願 人

Applicant(s):

日立マクセル株式会社
東洋紡績株式会社

2003年 6月17日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3047117

【書類名】 特許願

【整理番号】 PE1-HB1814

【提出日】 平成14年 6月27日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/00
C01B 33/18
C07H 1/06

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府茨木市丑寅一丁目1番88号 日立マクセル株式会社内

【氏名】 岸本 幹雄

【発明者】

【住所又は居所】 福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株式会社敦賀バイオ研究所内

【氏名】 西矢 芳昭

【特許出願人】

【識別番号】 000005810

【氏名又は名称】 日立マクセル株式会社

【代表者】 赤井 紀男

【特許出願人】

【識別番号】 000003160

【氏名又は名称】 東洋紡績株式会社

【代表者】 津村 準二

【代理人】

【識別番号】 100079153

【弁理士】

【氏名又は名称】 称▲ぎ▼元 邦夫

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 004628

特 2 0 0 2 - 1 8 8 1 4 0

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0112773

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 核酸結合用磁性担体およびその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子がシリカで被覆されてなり、このシリカの被覆量が強磁性酸化鉄粒子に対して 3 ～ 1 0 0 重量%であって、平均粒子サイズが 0. 1 ～ 0. 5 μ m、保磁力が 2. 3 9 ～ 1 1. 9 4 k A / m (3 0 ～ 1 5 0 エルステッド)、飽和磁化が 3 0 ～ 8 0 A · m² / k g (3 0 ～ 8 0 e m u / g) であることを特徴とする核酸結合用磁性担体。

【請求項 2】 強磁性酸化鉄粒子は、マグネタイト粒子、マグヘマイト粒子またはマンガン亜鉛フェライト粒子のうちのいずれかである請求項 1 に記載の核酸結合用磁性担体。

【請求項 3】 球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子を分散させた水懸濁液中に珪酸ナトリウムを加えて溶解したのち、酸を加えて中和することにより、強磁性酸化鉄粒子にシリカを被着形成するにあたり、水に対する珪酸ナトリウムの量を S i O₂ に換算して 0. 3 ～ 2 重量%とし、かつ水に対する強磁性酸化鉄粒子の量を 1 ～ 1 0 重量%として、請求項 1 または 2 に記載の核酸結合用磁性担体を得ることを特徴とする核酸結合用磁性担体の製造方法。

【請求項 4】 強磁性酸化鉄粒子にシリカを被着形成したのち、不活性ガス中で加熱処理を行う請求項 3 に記載の核酸結合用磁性担体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、核酸を含有する生物材料から核酸を抽出または精製したり、核酸増幅産物を精製するために用いられる、シリカで被覆された強磁性酸化鉄粒子からなる核酸結合用磁性担体に関するものである。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

磁性担体を使用した核酸の単離には、生親和性分子が共有結合し得る重合性シラン被膜で被覆した超常磁性酸化鉄を使用する方法（特開昭 6 0 - 1 5 6 4 号公

報)。磁気粒子表面をニトロセルロースなどのセルロース誘導体で被覆した磁性担体を用い、これにDNAまたはRNAの1本鎖核酸を特異的に結合させる方法(国際出願公開番号W 0 8 6 / 0 5 8 1 5)などが公知である。

【 0 0 0 3 】

また、ポリカチオン性支持体の磁気アミンマイクロスフェア(磁性微小球)と負電荷を有する糖リン酸塩主鎖をイオン結合させて、核酸の精製、分離およびハイブリダイゼーションを行う方法(特表平1-502319号公報)、内部コアポリマー粒子とこれに均一に被覆している磁氣的に応答する金属酸化物/ポリマーコーティングとよりなる磁性応答粒子を使用して、純粋な生物材料を単離する方法(特表平2-501753号公報)なども公知である。

【 0 0 0 4 】

しかし、これらは、磁性粒子担体表面とシラン被覆またはポリマーとの結合が共有結合などで行われ、この場合、磁性粒子表面に官能基が付加されることが多く、核酸の特異的吸着による分別や測定には有利であるが、核酸を非特異的に多く吸着し、回収量も高くなる固相担体には不向きである。

【 0 0 0 5 】

一般に、核酸の単離のために、表面被覆した磁性粒子を固相担体とする場合、直径が20 μ m以上の大きな粒子では、弱い磁界でも応答するが、沈降が速く操作性に劣り、また比表面積が小さいため、核酸の結合効率が低くなる。一方、直径が0.1 μ m以下の小さな粒子では、比表面積が大きいため、核酸の結合効率が向上し、かつ沈殿しにくく操作性も良好であるが、磁界に対する応答性が低下し、磁界により担体を捕集するのに大きな磁界が必要となる。

【 0 0 0 6 】

このような観点から、最近、核酸を非特異的に多く吸着し、回収量も高くなる固相担体として、超常磁性金属酸化物をシリカ粒子からなる無機多孔性壁物質で複合化した磁性シリカ粒子(特開平9-19292号公報、特開2001-78761号公報)や、多磁区からなる金属または金属酸化物よりなる複数の芯微粒子を珪素酸化物よりなる被膜または微粒子で被覆した構造の磁性シリカ粒子(特開2000-256388号公報)などが提案されている。

【 0 0 0 7 】

【発明が解決しようとする課題】

しかし、これらの磁性シリカ粒子は、複数個の磁性粒子からなる集合体を芯物質としこれをシリカで被覆した構造からなるため、個々の磁性シリカ粒子の粒子径が大きくなり、たとえば、好ましい上限値が $15\ \mu\text{m}$ ないし $20\ \mu\text{m}$ であるというような大きな値となり、しかも個々の磁性シリカ粒子に含まれる磁性芯粒子の数は一定せず、粒子径の分布も大きくなる。その結果、核酸結合用磁性担体としての性能に劣ったり、性能にばらつきを生じやすかった。

【 0 0 0 8 】

本発明は、上記問題を解決して、核酸の結合性と磁界による捕集性にすぐれ、かつ磁界を除去した状態での分散性と結合核酸の溶離性にすぐれ、核酸の単離や精製の効率を向上しうる核酸結合用磁性担体を得ることを目的とする。

【 0 0 0 9 】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記目的を達成するために、鋭意検討した結果、形状が球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子を使用し、この強磁性酸化鉄粒子の個々の粒子表面近傍に、特定量のシリカを被着形成することにより、核酸の結合性／磁界による捕集性と、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性とのバランスが良好な磁性担体が見出され、本発明をなすに至った。

【 0 0 1 0 】

形状が球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子は、磁気記録用や複写機のトナー用、さらに各種樹脂への黒色添加剤など広範囲の用途に使用されている。これらの強磁性酸化鉄粒子は、使用方法が乾式、湿式に係りなく、母剤中に均一に分散されていることが要求される。そのため、強磁性酸化鉄粒子の分散性を向上させるための表面処理が施されている。

この表面処理には、無機材料で表面処理する方法と、有機材料で表面処理する方法が知られており、無機材料による表面処理方法としては、一般に、シリカやアルミナの被膜を形成させる手法が知られている。

【 0 0 1 1 】

このように個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍にシリカの被膜を形成することはとくに新規な技術ではないが、上記目的では、個々の粒子の表面を均一に覆うように被膜形成することが重要で、通常は強磁性酸化鉄粒子に対して高々数重量%である。つまり、分散性を向上することを目的とする場合、シリカ被着量は、数重量%で十分で、たとえば2重量%以上形成させても、分散性向上の効果は認められないばかりか、磁性を持たない余剰のシリカの存在量が増加して、飽和磁化量や黒色度が低下するなど、特性が劣化する。

このため、これまで個々の強磁性酸化鉄粒子に対して数重量%以上ものシリカを被着させるような用途はなく、したがって、このように多量のシリカを被着させる検討は、これまでなされていなかったのが現状である。

【 0 0 1 2 】

本発明者らは、個々の強磁性酸化鉄粒子に対してシリカの被着形成量が異なる各種の磁性担体を作製し、核酸の結合性／磁界による捕集性と、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性を調べたところ、意外なことに、これまで分散性付与を目的に、個々の強磁性酸化鉄粒子を被覆するために必要と考えられてきたシリカの量よりも、遥かに多量のシリカで被覆した磁性担体において、核酸の結合性／磁界による捕集性のみならず、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性においてもすぐれた性能を示すことを見い出し、本発明をなすに至った。

すなわち、球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子を用いて、この粒子に対して、3～100重量%という、従来分散性付与に最適と考えられていたシリカの量よりも遥かに多量のシリカを被着形成した平均粒子サイズが0.1～0.5 μm の範囲の磁性担体において、核酸の結合性が著しく向上することを見い出した。

【 0 0 1 3 】

核酸はシリカに対して優先的に結合する性質があるため、一般的にはシリカの被着量が多くなるほど核酸の結合量も多くなる。しかしながら、従来の磁性担体においては、シリカで被覆する前の磁性粒子サイズは小さくても、これらの磁性粒子が複数個集まった集合体に対してシリカの被膜を形成しているため、得られる磁性担体はその平均粒子サイズが0.5～15 μm と大きくなり、その結果、核酸の結合に有効な表面が小さくならざるをえなかった。

このような磁性担体においては、シリカをいかに多量形成しても、表面のシリカ層の膜厚が厚くなるだけであり、実質的に核酸と結合するために有効なシリカの表面を増加させることはできなかった。

【 0 0 1 4 】

本発明者らは、核酸の結合に最適な磁性担体の構造について、検討してきた。上述のように、従来の複数個の磁性粒子にシリカを形成したものでは、シリカの形成量が多くなっても、表面のシリカ層の膜厚が厚くなるだけであり、実質的に核酸と結合するために有効なシリカの表面を増加させられない。

つまり、従来の磁性担体では、この担体中に含まれるシリカの量が多くても、核酸抽出効率の向上効果は、ほとんどないことがわかった。そこで、核酸の結合量を増加させるためには、強磁性酸化鉄粒子に対して直接シリカを被着形成することが必要で、シリカを被着形成した状態での磁性担体そのものを小さくすることが有効であることを見出した。

【 0 0 1 5 】

このシリカを個々の強磁性酸化鉄粒子に対し被着形成した磁性担体としては、平均粒子サイズが $0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$ の球状ないし粒状のものが最適であり、とくに $0.12 \sim 0.45 \mu\text{m}$ のものが好ましい。平均粒子サイズが上記範囲のときに、核酸の結合性／磁界による捕集性と、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性が両立する最もバランスの良い磁性担体が得られる。

これに対して、平均粒子サイズが上記範囲より小さくなると、核酸の結合性は向上するが、磁界による捕集性および磁界除去時の再分散性が低くなる傾向にある。また、平均粒子サイズが上記範囲より大きくなると、粒子の表面積が小さくなるため、核酸の結合効率が低くなる傾向にある。

なお、平均粒子サイズが上記の範囲であれば、複数個の強磁性酸化鉄粒子をシリカで被覆した構造の粒子を含有することを排除するものではない。

【 0 0 1 6 】

シリカを通して核酸と結合した磁性担体は、磁石などにより捕集されるが、この捕集性は、磁性担体の飽和磁化量に依存し、飽和磁化量が大きいほど捕集性は向上する。本発明の磁性担体において、シリカの被着形成量を $3 \sim 100$ 重量%

の範囲に設定すると、飽和磁化量は多少低下するが、磁石による捕集性に対しては実質的にほとんど影響がないことがわかった。

【 0 0 1 7 】

磁石で捕集した磁性担体は、別の溶液中に移され、シリカと結合した核酸をこの溶液中に溶離させる。この際、磁石で捕集された状態では凝集していた磁性担体が、磁石から離れると溶液中で容易に分散する必要がある。

本発明の磁性担体においては、その平均粒子サイズが $0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$ と微粒子であるにもかかわらず、シリカの被着形成量が $3 \sim 100$ 重量% と多いため、このシリカが立体障害として効果的に作用し、個々の磁性担体同士の磁気的な凝集を防止して、すぐれた分散性を示す。

また、シリカと結合した核酸は、溶液中ではシリカとの結合が切れ、溶液中に溶離するが、本発明の磁性担体ではこの溶離性も良好であり、結合量が多い分、溶離する核酸の量が増加し、核酸の抽出効率が向上する。

【 0 0 1 8 】

つぎに、磁性担体の保磁力であるが、一般的に保磁力が大きくなると磁性担体間の凝集力が大きくなり、磁性担体から核酸を溶離するときの磁性担体の分散性が低下する。その結果、結合した核酸の磁性担体からの溶離性が低下し、核酸の抽出効率が低下する傾向にある。

本発明の磁性担体では、個々の強磁性酸化鉄粒子に対しシリカが被着形成されているため、磁性担体の保磁力は強磁性酸化鉄粒子の保磁力によりほぼ決まる。本発明者らは、核酸抽出に影響を与えない最適の保磁力の範囲について検討した結果、 $2.39 \sim 11.94 \text{ kA/m}$ ($30 \sim 150$ エルステッド) の範囲内であれば、実用上問題がないことを見い出した。

【 0 0 1 9 】

すなわち、磁性担体の保磁力が 11.94 kA/m (150 エルステッド) より大きくなると、磁性担体の分散性が低下してくるが、 11.94 kA/m (150 エルステッド) 以下の保磁力であれば、実用上問題ないことを見い出した。一方、保磁力が低い分には、とくに問題となることはないが、 2.39 kA/m (30 エルステッド) より低くするためには、強磁性酸化鉄粒子の粒子サイズを

大きくするなど、強磁性酸化鉄粒子を本発明の目的に適さない形状や構造にする必要が生じてくるため、好ましくない。

【 0 0 2 0 】

つぎに、磁性担体の飽和磁化は、強磁性酸化鉄粒子の飽和磁化と被着形成するシリカの量により決まり、 $30 \sim 80 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($30 \sim 80 \text{ emu} / \text{g}$) の範囲が最適である。 $30 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($30 \text{ emu} / \text{g}$) より小さいと、磁石による捕集性が低下する傾向にある。一方、 $80 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($80 \text{ emu} / \text{g}$) より大きくなると、シリカの被着形成量が少なくなるため、磁性担体が凝集しやすくなり、分散性が低下する傾向にある。

したがって、保磁力と飽和磁化が、それぞれ $2.39 \sim 11.94 \text{ kA} / \text{m}$ ($30 \sim 150$ エルステッド) と $30 \sim 80 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($30 \sim 80 \text{ emu} / \text{g}$) の範囲のときに、核酸の結合性／磁界による捕集性と、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性が両立する最もバランスの良い磁性担体となる。

【 0 0 2 1 】

つぎに、強磁性酸化鉄粒子であるが、本発明者らは、これまで磁気記録用磁性材料の開発に長年携わってきた経験から、各種の強磁性酸化鉄粒子について、核酸抽出用の磁性担体としての適合性を調べてきた。その結果、強磁性酸化鉄粒子としては、マグネタイト (Fe_3O_4) 粒子、マグヘマイト ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) 粒子およびマンガン亜鉛フェライト ($\text{MnZnFe}_2\text{O}_4$) 粒子が最適であることがわかった。また、これらの強磁性酸化鉄粒子のうち、マグネタイト粒子など 2 価の鉄イオンを含む酸化鉄においては、結晶構造を維持する範囲で上記化学量論的組成から外れている、マグネタイトとマグヘマイトとの中間酸化鉄状態であっても良いこともわかった。

【 0 0 2 2 】

さらに、上記の強磁性酸化鉄粒子のうち、マグネタイト粒子は飽和磁化が大きく、本発明の磁性担体用の強磁性酸化鉄粒子として、とくに適している。

また、強磁性酸化鉄粒子の形状には、針状、板状、球状、粒状、楕円状、立方形状など各種の形状のものがあるが、粒子形状は、核酸を結合した磁性担体から核酸を溶離させるときの磁性担体の分散性に影響し、球状ないし粒状のものが、

分散性が最も良好であるため、好ましい。

【 0 0 2 3 】

シリカの被着形成量としては、既述のとおり、強磁性酸化鉄粒子に対して、3～100重量%が好ましい。3重量%より少ないと、核酸の結合量が少なくなり、抽出効率が低下するため、好ましくない。100重量%より多いと、シリカを個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍に均一に被着形成することが困難になり、核酸の結合量増加の効果が少なくなり、また磁性担体としての飽和磁化量が減少して、磁界による捕集性が低下するため、好ましくない。

シリカの被着形成方法に関しては、後述するが、個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍にシリカを被着形成することが重要であり、従来知られている方法では、複数個の磁性粒子の集合体全体をシリカで被覆するのには有効な方法であるが、本発明の目的の磁性担体を得るためには適さない。

【 0 0 2 4 】

以上述べたように、本発明では、個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍に、強磁性酸化鉄粒子に対するシリカの割合が3～100重量%になるようにシリカを被着形成した平均粒子サイズが0.1～0.5 μm の球状ないし粒状の磁性担体とすることにより、核酸の結合性／磁界による捕集性と、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性のバランスが良好な、核酸を抽出または精製し、あるいは核酸増幅産物を精製するための最適の磁性担体を得ることができる。

【 0 0 2 5 】

なお、本発明にいう「球状」とは、アスペクト比（あらゆる方向で測定した場合の最大長さと最小長さの比）が1.0～1.2の範囲にある形状を指し、また、「粒状」とは、球状のように粒子の長さが全方向で揃っている、あるいは楕円体状のように一方向の長さのみ大きいもの以外に、方向による長さの差異はあるが、全体として形状にとくに異方性のないものを指す。

【 0 0 2 6 】

【発明の実施の形態】

本発明の磁性担体は、個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍に上記粒子に対して3～100重量%のシリカを被着形成した平均粒子サイズが0.1～0.5 μm

の球状ないし粒状の粒子状物であり、核酸の結合性／磁界による捕集性と、磁界除去時の分散性／核酸の溶離性のバランスが良好な、核酸を抽出または精製し、あるいは核酸増幅産物を精製するための最適な磁性担体である。

【 0 0 2 7 】

強磁性酸化鉄粒子としては、マグネタイト (Fe_3O_4) 粒子、マグヘマイト ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) 粒子、マグネタイトーマグヘマイト中間酸化鉄粒子およびマンガン亜鉛フェライト ($\text{MnZnFe}_2\text{O}_4$) 粒子の中から選ばれたものが好ましく、とくにマグネタイト粒子が最適である。また、個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍にシリカを被着形成後、不活性ガス雰囲気中で加熱処理を行ったものは、核酸の抽出精製するための、あるいは核酸増幅産物を精製するための磁性担体としてとくに適している。

【 0 0 2 8 】

以下、強磁性酸化鉄粒子としてマグネタイト粒子を使用する場合を例にとり、本発明の磁性担体の製造方法について、説明する。マグネタイト粒子以外の強磁性酸化鉄粒子を用いた磁性担体も、以下の方法に準じて、製造できる。

【 0 0 2 9 】

＜マグネタイト粒子の合成＞

マグネタイト粒子は、鉄塩の水溶液中の酸化反応を用いた、以下の方法により合成できる。まず、硫酸第一鉄 ($\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) を溶解した 2 価の Fe イオン水溶液に、 NaOH 水溶液を滴下し、水酸化第一鉄 [$\text{Fe}(\text{OH})_2$] を析出させる。この水酸化第一鉄の懸濁液の PH を 9 ～ 10 に調整したのち、空気を吹き込んで酸化し、マグネタイト粒子を成長させる。

【 0 0 3 0 】

PH が上記範囲より小さいと、マグネタイトの析出が遅くなる。また、 PH が上記範囲より大きいと、ゲーサイト ($\alpha\text{-FeOOH}$) が生成しやすくなる。空気吹き込み速度と懸濁液の保持温度は、マグネタイト粒子の粒子サイズに大いに影響を与える。空気吹き込み速度は、100 ～ 400 リットル／時間に、また懸濁液の保持温度は、50 ～ 90℃ に調整するのが望ましい。

通常、空気吹き込み速度が大きくなるとマグネタイトの結晶成長が速くなり、

粒子サイズは小さくなる。空気吹き込み速度が小さすぎたり、大きすぎたりするとマグネタイト以外の物質が混在析出しやすくなる。保持温度が高くなるほど、マグネタイトの結晶成長しやすくなり、粒子サイズが大きくなる。保持温度が低すぎるとゲーサイト ($\alpha\text{-FeOOH}$) 粒子が生成しやすくなる。

【 0 0 3 1 】

このような方法により、平均粒子サイズとして $0.05\text{ }\mu\text{m}$ 以上、 $0.5\text{ }\mu\text{m}$ 未満のマグネタイト粒子を合成する。平均粒子サイズは、走査型電子顕微鏡写真上で 300 個の粒子のサイズ（方向によりサイズが異なる場合は最大径）を測定し、その平均値から求められる。

【 0 0 3 2 】

< シリカの被着形成 >

このように合成したマグネタイト粒子を強磁性酸化鉄粒子として、その表面にシリカを被着形成する方法について、説明する。

合成したマグネタイト粒子を純水で十分水洗したのち、乾燥させることなく、水に対するマグネタイト粒子の量が 1 ~ 10 重量% になるように、水とマグネタイト粒子の割合を調整する。水に対するマグネタイト粒子の量はシリカを個々のマグネタイト粒子の表面近傍に被着形成するときの均一性に影響し、上記範囲内のとき最も均一にシリカが被着形成される。

すなわち、水に対するマグネタイト粒子の量が 1 重量% 未満となると、濃度が希薄すぎて、シリカがマグネタイト粒子の表面以外の場所で析出しやすくなる。また、水に対するマグネタイト粒子の量が 10 重量% を超えると、濃度が高すぎて、マグネタイト粒子が凝集しやすくなり、個々のマグネタイト粒子の表面近傍に均一にシリカを被着形成することが困難になる。

【 0 0 3 3 】

この懸濁液に、 SiO_2 に換算して、強磁性酸化鉄粒子に対して 3 ~ 100 重量% になるようにケイ酸ナトリウム（水ガラス）を加える。この量が 3 重量% より少ないと、マグネタイト粒子の表面近傍に被着形成されるシリカの量が不十分になるため、核酸の結合量が少なくなり、抽出効率が低下する。また、100 重量% より多いと、シリカを個々のマグネタイト粒子の表面近傍に均一に被着形成

することが困難になり、核酸の結合量増加の効果は少なくなり、また磁性担体としての飽和磁化量が減少し、磁界による捕集性が低下する。

【 0 0 3 4 】

また、この珪酸ナトリウムの量は、 SiO_2 に換算して、水に対して 0.3 ～ 2 重量% となるように調整する。個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍へのシリカの被着形成方法は、実施例で詳述するが、珪酸ナトリウム水溶液に希塩酸などの酸を加えて中和反応によりシリカを析出させると、液の粘度が高くなる。粘度が高すぎると、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカを均一に被着形成するのが困難になり、粘度が低すぎると、シリカが析出しにくくなる。

【 0 0 3 5 】

このように、マグネタイト粒子に対して SiO_2 に換算して 3 ～ 100 重量% になるように珪酸ナトリウムを加えるが、その際、水に対する珪酸ナトリウムの量が SiO_2 に換算して 0.3 ～ 2 重量% になるように調整し、かつ水に対するマグネタイト粒子の量が 1 ～ 10 重量% になるように、マグネタイト粒子、珪酸ナトリウムおよび水の量を調整するのが好ましい。

このように調整すると、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成した、核酸の抽出精製や核酸増幅産物の精製に最適な磁性担体を得られる。このように合成される磁性担体は、純水で十分水洗し、ろ過したのち、空气中で、所定温度で所定時間（たとえば、60℃で4時間）乾燥する。

【 0 0 3 6 】

<加熱処理>

このように合成した磁性担体は、核酸の抽出精製、あるいは核酸増幅産物の精製の磁性担体として、すぐれた性能を発揮するが、この磁性担体をさらに不活性ガス中で加熱処理すると、性能がさらに向上する。

加熱処理としては、窒素やアルゴンなどの不活性ガス雰囲気下で加熱処理するのが好ましい。また、真空中で加熱処理してもよい。空気のような酸化性ガスも使用可能であるが、加熱温度が高くなるとマグネタイト粒子が酸化して飽和磁化が低下しやすくなるため、不活性ガスを使用するのが好ましい。

【 0 0 3 7 】

処理温度は、200～800℃が好ましい。200℃未満では加熱処理の効果が少なく、800℃を超えるとマグネタイト粒子が凝集しやすくなり、核酸を結合、溶離させるときの分散性が低下しやすい。処理時間は処理温度により異なるが、通常1～10時間とするのがよい。処理時間が短すぎると十分な熱処理効果が得られず、長すぎるとマグネタイト粒子が凝集しやすくなる。

このような加熱処理により、マグネタイト粒子の表面近傍にシリカがより強固に結合し、またシリカの結晶性も向上し、核酸との結合性が向上する。

【0038】

以上述べた方法により、保磁力と飽和磁化がそれぞれ2.39～11.94 kA/m (30～150エルステッド) と30～80 A・m²/kg (30～80 emu/g) の範囲にあり、かつ個々のマグネタイト粒子の表面近傍にマグネタイト粒子に対して3～100重量%のシリカが被着形成された、平均粒子サイズが0.1～0.5 μmの球状ないし粒状である、核酸の抽出精製、あるいは核酸増幅産物の精製に最適な磁性担体が得られる。

【0039】

なお、本発明において、保磁力および飽和磁化は、振動試料型磁力計（東英工業製）を用いて、測定される値を意味している。

飽和磁化は、797 kA/m (10キロエルステッド) の磁界を印加したときの磁化量から求められる。保磁力は、797 kA/mの磁界を印加して磁化したのち磁界をゼロに戻し、さらに磁界を逆方向に徐々に増加させて行ったときの、磁化量がゼロになる印加磁界の値から求められる。

【0040】

本発明の磁性担体に関し、核酸を抽出または精製し、あるいは核酸増幅産物を精製するために用いることを目的とした、好適な特性について、いま一度、整理すると、下記(1)～(5)のとおりである。

- (1) 個々の強磁性酸化鉄粒子の表面近傍に、強磁性酸化鉄粒子に対し3～100重量%のシリカが被着形成された磁性担体であって、
- (2) この強磁性酸化鉄粒子がマグネタイト粒子であることが好ましく、
- (3) この磁性担体が球状ないし粒状の形状を有し、平均粒子サイズが0.1～

0.5 μm の範囲にあり、

- (4) 磁性担体の保磁力と飽和磁化が、それぞれ $2.39 \sim 11.94 \text{ kA/m}$ ($30 \sim 150$ エルステッド) と $30 \sim 80 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($30 \sim 80 \text{ emu/g}$) の範囲にあり、
- (5) 製造法としては、この強磁性酸化鉄粒子を分散させた水懸濁液中に、水に対する珪酸ナトリウムの量が SiO_2 に換算して $0.3 \sim 2$ 重量%で、かつ水に対する強磁性酸化鉄粒子の量が $1 \sim 10$ 重量%になるように調整してシリカを被着形成することが好ましく、
- (6) シリカを被着形成後、水洗、乾燥し、さらに不活性ガス雰囲気下で加熱処理を施すことが好ましい。

【0041】

本発明の磁性担体は、核酸を含有する材料や核酸抽出溶液と混合して、核酸を結合したのち、磁界を用いて溶液から分離し、この核酸を結合した磁性担体から核酸を溶離することにより、核酸を単離、精製する。

本発明の磁性担体と核酸を含有する試料や核酸抽出溶液と混合する工程は、たとえば、市販のボルテックスミキサーを用いることにより、あるいはチューブを軽く転倒攪拌または振とうすることなどにより、行われる。

【0042】

また、核酸を結合した磁性担体を磁界を用いて液体から分離する工程は、磁石を用いて行われる。磁石としては、たとえば、磁束密度が約 300 ガウスの磁石を用いることができる。具体的には、核酸を含有する試料や核酸抽出用溶液を含むチューブの側壁に磁石を近づけて、核酸を結合した磁性担体を側壁に集め、核酸抽出溶液などの溶液と分離する方法が用いられる。

さらに、核酸を結合した磁性担体から核酸を溶離する工程は、核酸が結合した磁性担体を、たとえば、約 70% のエタノールにて数回洗浄したのち、磁性担体を乾燥し、その後、滅菌水やTE緩衝液などの低イオン濃度の溶液を添加することにより、磁性担体に結合した核酸を磁性担体から溶離する。

【0043】

【実施例】

以下に、本発明の実施例を記載して、より具体的に説明する。ただし、本発明はこれらの実施例にのみ限定されるものではない。

【 0 0 4 4 】

実施例 1

＜マグネタイト粒子の合成＞

1 0 0 g の硫酸第一鉄 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) を 1, 0 0 0 c c の純水に溶解した。この硫酸第一鉄と等倍モルになるように、2 8 . 8 g の水酸化ナトリウムを 5 0 0 c c の純水に溶解した。硫酸第一鉄水溶液を攪拌しながら、1 時間かけて水酸化ナトリウム水溶液を滴下し、水酸化第一鉄の沈殿物を生成した。滴下終了後、攪拌しながら、水酸化第一鉄の沈殿物を含む懸濁液の温度を 8 5 °C まで昇温したのち、2 0 0 リットル／時間の速度で、エアーポンプを使用して空気を吹き込みながら、8 時間酸化し、マグネタイト粒子を生成した。この粒子は、ほぼ球形であり、平均粒子サイズは約 0 . 2 8 μm であった。

なお、上記の粒子サイズは、透過型電子顕微鏡写真上、約 3 0 0 個の粒子サイズを測定し、その平均粒子サイズから求めた。

【 0 0 4 5 】

＜シリカの被着形成＞

上記マグネタイト粒子の懸濁液を、純水を用いて十分に水洗したのち、乾燥させることなく、マグネタイト粒子と水の重量がそれぞれ 1 0 g と 2 0 0 g になるように調整した。なお、水洗後の懸濁液中のマグネタイトの量は、一部採取して乾燥させて求めた。この懸濁液に 3 . 6 g の珪酸ナトリウムを溶解した。

上記珪酸ナトリウムは、溶解状態ではアルカリ性であるが、中和して中性付近にすると、シリカとして析出する。そこで、この珪酸ナトリウム溶解マグネタイト粒子懸濁液に、攪拌しながら、約 1 時間かけて、希塩酸を滴下して、中性付近まで中和した。滴下終了後、さらに 1 時間、攪拌を継続した。この工程により、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカを被着形成した。

【 0 0 4 6 】

この反応において、水に対する珪酸ナトリウムの量とマグネタイト粒子の量は重要であり、珪酸ナトリウムの量が、 SiO_2 に換算して、水に対し 0 . 5 ~ 2

重量%の範囲であるときが、珪酸ナトリウム水溶液から中和反応によりシリカを析出させるときの液の粘度が最適になり、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカを均一に被着形成することができる。また、水に対するマグネタイト粒子の量が1～10重量%の範囲であるときが、マグネタイト粒子の表面近傍に優先的にシリカを被着形成する上で、最適である。

【 0 0 4 7 】

つぎに、攪拌を停止して、自然沈降させた。上澄み液を除去し、水洗後、ろ過し、60℃で4時間乾燥して、核酸結合用磁性担体とした。

この磁性担体は、平均粒子サイズが0.32 μm の球状ないし粒状で、保磁力が4.78 kA/m (60エルステッド)で、飽和磁化が66.8 $\text{A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ (66.8 emu/g)であった。また、シリカの被覆量は、 SiO_2 に換算して、マグネタイト粒子に対して19.4重量%であった。図1は、この磁性担体の走査電子顕微鏡写真を示したものである。この写真より、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成していることが認められる。

【 0 0 4 8 】

実施例 2

シリカの被着形成工程において、珪酸ナトリウムの量を3.6 gから1.8 gに変更した以外は、実施例1と同様にして、マグネタイト粒子に対するシリカの被着形成を行い、核酸結合用磁性担体を得た。

この磁性担体は、平均粒子サイズが0.29 μm の球状ないし粒状で、保磁力が4.38 kA/m (55エルステッド)で、飽和磁化が75.1 $\text{A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ (75.1 emu/g)であった。また、シリカの被覆量は、 SiO_2 に換算して、マグネタイト粒子に対して9.8重量%であった。走査電子顕微鏡観察から、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成していることが認められた。

【 0 0 4 9 】

実施例 3

シリカの被着形成工程において、マグネタイト粒子と水の重量をそれぞれ10 gと200 gから10 gと500 gに変更し、かつ珪酸ナトリウムの量を3.6

g から 1 4 . 9 g に変更した以外は、実施例 1 と同様にして、マグネタイト粒子に対するシリカの被着形成を行い、核酸結合用磁性担体を得た。

この磁性担体は、平均粒子サイズが 0 . 3 4 μm の球状ないし粒状で、保磁力が 5 . 9 7 k A / m (7 5 エルステッド) で、飽和磁化が 6 0 . 1 A \cdot m² / k g (6 0 . 1 e m u / g) であった。また、シリカの被覆量は、S i O₂ に換算して、マグネタイト粒子に対して 7 8 . 9 重量% であった。走査電子顕微鏡観察から、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成していることが認められた。

【 0 0 5 0 】

実施例 4

実施例 1 で得た核酸結合用磁性担体に対して、さらに窒素ガス中、5 0 0 °C で 2 時間の加熱処理を行った。

この磁性担体は、平均粒子サイズが 0 . 3 2 μm の球状ないし粒状で、保磁力が 5 . 1 8 k A / m (6 5 エルステッド) で、飽和磁化が 6 8 . 3 A \cdot m² / k g (6 7 . 3 e m u / g) であった。また、シリカの被覆量は、S i O₂ に換算して、マグネタイト粒子に対して 1 9 . 4 重量% であった。走査電子顕微鏡観察から、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成していることが認められた。

【 0 0 5 1 】

実施例 5

マグネタイト粒子の合成工程において、水酸化第一鉄の沈殿物を含む懸濁液の温度を 8 5 °C から 6 0 °C に変更した以外は、実施例 1 と同様にして、平均粒子サイズが 0 . 1 3 μm のマグネタイト粒子を合成した。

このマグネタイト粒子を使用し、実施例 1 と同様にして、シリカの被着形成を行い、核酸結合用磁性担体を得た。

この磁性担体は、平均粒子サイズが 0 . 1 7 μm の球状ないし粒状で、保磁力が 7 . 5 7 k A / m (9 5 エルステッド) で、飽和磁化が 6 3 . 4 A \cdot m² / k g (6 3 . 4 e m u / g) であった。また、シリカの被覆量は、S i O₂ に換算して、マグネタイト粒子に対して 1 9 . 8 重量% であった。図 2 は、この磁性担

体の走査電子顕微鏡写真を示したものである。この写真より、個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成していることが認められる。

【 0 0 5 2 】

比較例 1

強磁性酸化鉄粒子として、市販のマグヘマイト ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) 粒子を使用した。このマグヘマイト粒子は、平均粒子サイズが約 $0.26\ \mu\text{m}$ であり、保磁力は $8.76\ \text{kA/m}$ (110 エルステッド)、飽和磁化は $83.5\ \text{A}\cdot\text{m}^2/\text{kg}$ ($83.5\ \text{emu/g}$) であった。

このマグヘマイト粒子 5 g に水 25 g を加えて懸濁させた。この懸濁液に 28 g の珪酸ナトリウムを加えて溶解した。96 g のヘキサンにソルビタンモノラウレート 1.44 g を溶解し、これを上記珪酸ナトリウム溶解マグヘマイト懸濁液と混合し、ホモミキサーにより攪拌し、エマルジョン分散液を調製した。

64 g の硫酸アンモニウムを 288 cc の純水に溶解し、この溶解液を攪拌しながら、これに上記のエマルジョン分散液を滴下し、マグヘマイト粒子がシリカで包含された磁性担体を生成し、水洗後、 60°C で乾燥した。

【 0 0 5 3 】

このようにして得た核酸結合用磁性担体は、平均粒子サイズが約 $5.6\ \mu\text{m}$ で、本発明の磁性担体の平均粒子サイズである $0.1\sim 0.5\ \mu\text{m}$ に比べて遥かに大きかった。また、保磁力は $7.33\ \text{kA/m}$ (92 エルステッド)、飽和磁化は $22.1\ \text{A}\cdot\text{m}^2/\text{kg}$ ($22.1\ \text{emu/g}$) であった。また、シリカの被覆量は、 SiO_2 に換算して、マグヘマイト粒子に対して 260 重量%であった。この磁性担体は、本発明の磁性担体のように個々のマグネタイト粒子の表面近傍にシリカが被着形成したものとは異なり、マグヘマイト粒子の集合体を包み込むようにシリカの被膜が形成されていることが、走査電子顕微鏡写真から確認された。

【 0 0 5 4 】

上記の実施例 1～5 および比較例 1 で得られた各核酸結合用磁性担体について、その主要特性として、平均粒子サイズ、保磁力、飽和磁化および SiO_2 に換算した、マグネタイト粒子 (比較例 1 ではマグヘマイト粒子) に対するシリカの

被覆量を、下記の表 1 にまとめて示した。

【 0 0 5 5 】

表 1

	平均粒子 サイズ (μm)	保磁力 (kA/m)	飽和磁化 ($\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$)	シリカの 被覆量 (重量%)
実施例 1	0. 3 2	4. 7 8	6 6. 8	1 9. 4
実施例 2	0. 2 9	4. 3 8	7 5. 1	9. 8
実施例 3	0. 3 4	5. 9 7	6 0. 1	7 8. 9
実施例 4	0. 3 2	5. 1 8	6 3. 8	1 9. 4
実施例 5	0. 2 0	7. 5 7	6 3. 4	1 9. 8
比較例 1	5. 6	7. 3 3	2 2. 1	2 6 0

【 0 0 5 6 】

つぎに、上記の実施例 1 ～ 5 および比較例 1 で得られた各核酸結合用磁性担体について、下記の抽出試験により、生物試料より核酸を抽出回収し、その回収性能を調べた。結果は、表 2 に示されるとおりであった。

【 0 0 5 7 】

(A) 抽出試験用試剤

(イ) 核酸結合用磁性担体を 0. 2 mg/ml になるように滅菌水に分散させて、分散液を調製した。

(ロ) 核酸を単離するための生物試料として、大腸菌 [*Escherichia coli* JM109 (東洋紡績, 宝酒造, インビトロジェンなどより販売されている)] を 3 mL 、TB 培地/試験管にて 37℃ で 20 時間培養した菌体を用いた。

(ハ) 核酸抽出用溶液として、カオトロピック物質を含む緩衝液であるバッ

ファー A [7M グアニジン塩酸塩 (ナカライテスク社)、50 mM Tris-HCl (シグマ社)、pH 7.5] を用いた。

- (二) 洗浄液として、カオトロピック物質を含む緩衝液であるバッファー A [7M グアニジン塩酸塩 (ナカライテスク社)、50 mM Tris-HCl (シグマ社)、pH 7.5] を使用した。
- (ホ) 高濃度の塩を除去するための試剤として、70% エタノール溶液と、アセトン溶液を使用した。
- (ヘ) 核酸結合用磁性担体に結合した核酸を回収するための溶離液として、滅菌水を使用した。

【0058】

(B) 抽出試験方法

- (1) 菌体濁度 (OD 660) を測定し、1.5 cc 用エッペンドルフチューブにて OD 660 ; 1.0 の菌体を遠心分離により調製した。つぎに、核酸抽出用溶液 1,000 μ l を注入し、混合した。
- (2) その後、核酸結合用磁性担体の分散液 20 μ l を加えた。
- (3) 約 2 分毎に混合しながら、室温で 10 分間放置した。
- (4) 1.5 cc 用エッペンドルフチューブの形状に合った磁石スタンドに上記チューブを設置することにより、核酸結合用磁性担体を磁石側のチューブ側に集めた。
- (5) フィルターチップで溶液を吸引し、排出した。
- (6) チューブを磁石スタンドより取りはずし、グアニジン塩酸塩を含む洗浄液を 1 cc 注入した。
- (7) 核酸結合用磁性担体と十分混合したのち、再度、磁石スタンドに設置し、上記と同様にして溶液を廃棄した。
- (8) 洗浄操作を再度繰り返した。
- (9) 1 cc の 70% エタノールで上記と同様の方法により、核酸を結合した磁性担体を洗浄し、高濃度のグアニジン塩酸塩を取り除いた。
- (10) 再度、1 cc の 70% エタノールと 1 cc のアセトンで洗浄した。
- (11) 約 56℃ のヒートブロックに上記チューブを設置し、約 10 分間放置

して、チューブ内および核酸結合用磁性担体内のアセトンを完全に蒸発させて除去した。

- (12) 上記方法で核酸を結合した核酸結合用磁性担体に、 $100\mu\text{l}$ の滅菌水を加え、約 56°C のヒートブロックに上記チューブを設置し、2分毎に混合操作しながら10分間放置した。
- (13) つぎに、磁石スタンドに設置し、回収する溶液をフィルターチップで吸引し、別の新しいチューブに移した。通常、回収量は $70\mu\text{l}$ 程度とした。保存する場合は、 -70°C で行った。
- (14) このように回収した核酸について、吸光度計により、その吸光度 ($\text{OD}_{260\text{nm}}$) を測定して、核酸の濃度を求めた。これに回収容積をかけて、核酸回収量とした。

【0059】

表 2

	核酸の回収量 (ng)
実施例 1	2, 030
実施例 2	1, 960
実施例 3	1, 990
実施例 4	2, 050
実施例 5	2, 010
比較例 1	1, 070

【0060】

上記結果から明らかなように、球状ないし粒状である個々のマグネタイト粒子の表面近傍に、マグネタイト粒子に対して3～100重量%のシリカを被着形成して、平均粒子サイズが $0.1\sim0.5\mu\text{m}$ の範囲に、保磁力と飽和磁化が、それぞれ $2.39\sim11.94\text{ kA/m}$ (30～150エルステッド) と30～8

$0 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($30 \sim 80 \text{ emu} / \text{g}$) の範囲にある実施例 1 ～ 5 の各核酸結合用磁性担体は、マグヘマイト粒子の集合体をシリカで包含した構造の比較例 1 の核酸結合用磁性担体に比べて、核酸単離性能にすぐれている。

【 0 0 6 1 】

これは、実施例 1 ～ 5 の核酸結合用磁性担体においては、個々のマグネタイト粒子の表面近傍に、シリカが被着形成しているため、核酸と有効に結合できるシリカが多くなり、またシリカが個々のマグネタイト粒子間の凝集を防止する作用も有する結果、核酸の結合性／磁性担体の磁界による捕集性と、磁性担体の分散性／核酸の溶離性が両立することに起因するものである。

【 0 0 6 2 】

【発明の効果】

以上のように、本発明は、球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子にシリカを被着形成して、平均粒子サイズが $0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$ であって、かつ保磁力と飽和磁化を、それぞれ $2.39 \sim 11.94 \text{ kA} / \text{m}$ ($30 \sim 150$ エルステッド) と $30 \sim 80 \text{ A} \cdot \text{m}^2 / \text{kg}$ ($30 \sim 80 \text{ emu} / \text{g}$) とすることにより、核酸の結合性／磁性担体の捕集性と磁性担体の分散性／核酸の溶解性とを両立できる、すぐれた核酸単離性能を示す磁性担体を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

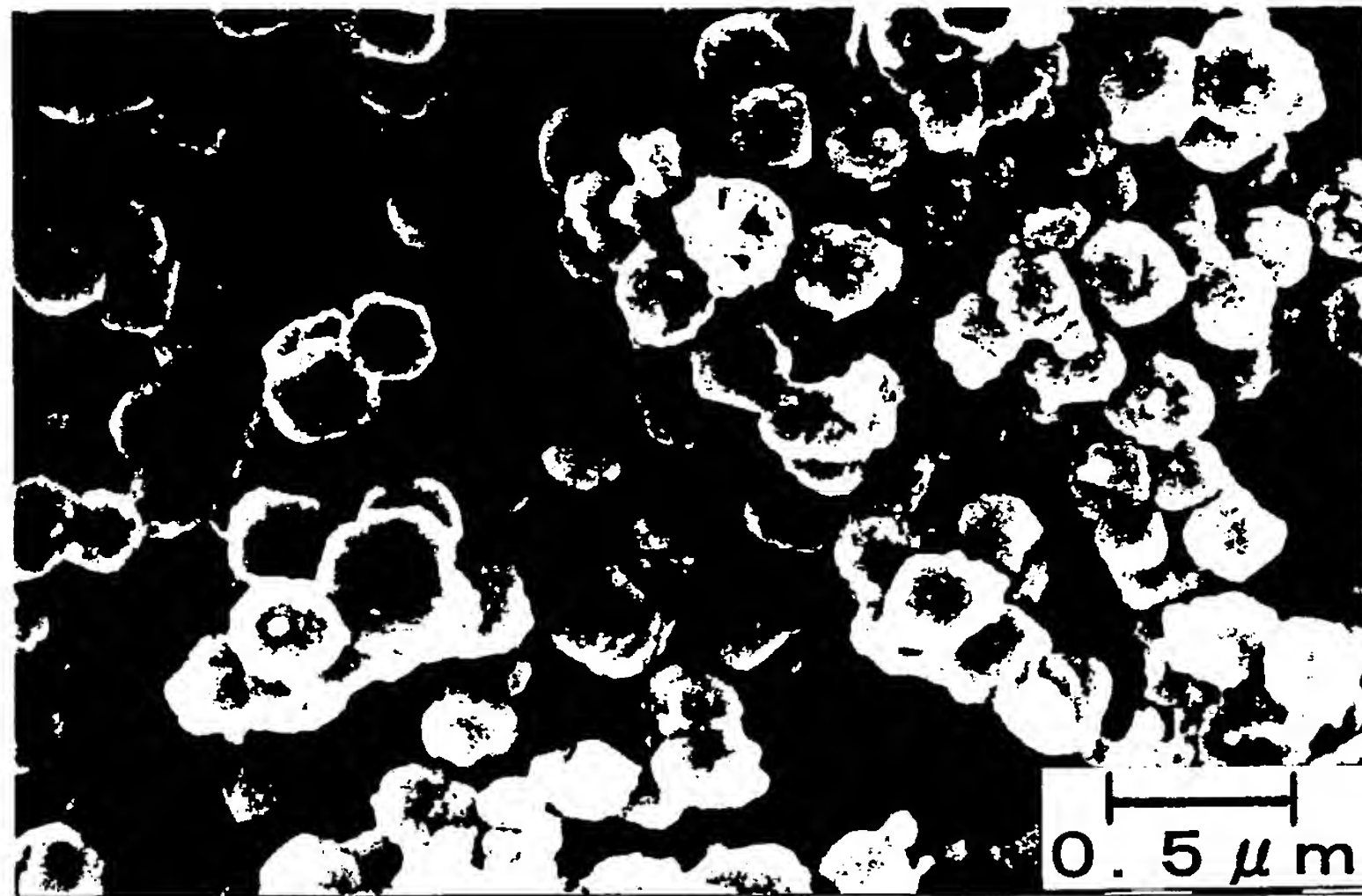
実施例 1 で得た核酸結合用磁性担体の電子顕微鏡写真（倍率：3 万倍）を示したものである。

【図 2】

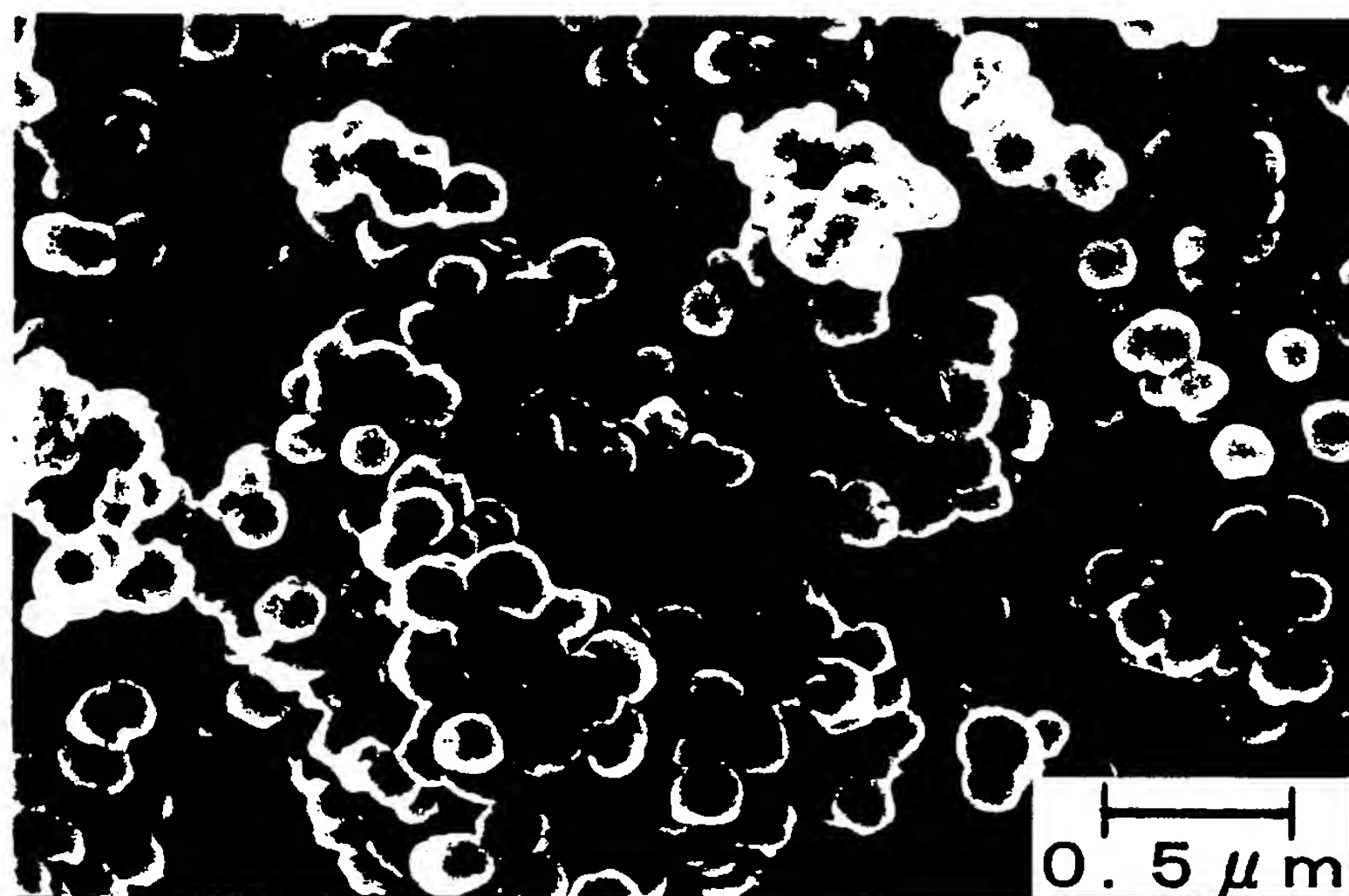
実施例 5 で得た核酸結合用磁性担体の電子顕微鏡写真（倍率：3 万倍）を示したものである。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 核酸の結合性と磁界による捕集性にすぐれ、かつ磁界を除去した状態での分散性と結合核酸の溶離性にすぐれ、核酸の単離や精製の効率を向上しうる核酸結合用磁性担体を提供する。

【解決手段】 球状ないし粒状の強磁性酸化鉄粒子がシリカで被覆されてなり、このシリカの被覆量が強磁性酸化鉄粒子に対し 3 ～ 1 0 0 重量%であり、平均粒子サイズが 0. 1 ～ 0. 5 μ m、保磁力が 2. 3 9 ～ 1 1. 9 4 k A / m (3 0 ～ 1 5 0 エルステッド)、飽和磁化が 3 0 ～ 8 0 A · m² / k g (3 0 ～ 8 0 e m u / g) であることを特徴とする核酸結合用磁性担体。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 5 8 1 0]

1. 変更年月日 2 0 0 2 年 6 月 1 0 日

[変更理由] 住所変更

住 所 大阪府茨木市丑寅 1 丁目 1 番 8 8 号

氏 名 日立マクセル株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 3 1 6 0]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 1 0 日
[変更理由] 新規登録
住 所 大阪府大阪市北区堂島浜 2 丁目 2 番 8 号
氏 名 東洋紡績株式会社

2. 変更年月日 2 0 0 3 年 4 月 9 日
[変更理由] 名称変更
住 所 大阪府大阪市北区堂島浜 2 丁目 2 番 8 号
氏 名 東洋紡績株式会社